

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-79

(43) 公開日 平成11年(1999) 1 月 6 日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

A 0 1 K 67/027

A 0 1 K 67/027

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 5/00

B

15/09

15/00

A

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号

特願平9-167999

(22) 出願日

平成9年(1997) 6 月 9 日

(71) 出願人 000001926

塩野義製薬株式会社

大阪府大阪市中央区道修町 3 丁目 1 番 8 号

(72) 発明者 中野 亨

大阪府堺市長曾根町654

(72) 発明者 石本 義和

兵庫県姫路市宮上町 2 - 8

(74) 代理人 弁理士 細田 芳徳

(54) 【発明の名称】 G a s 6 遺伝子改変マウス

(57) 【要約】

【課題】 G a s 6 遺伝子が改変されたマウスを作製して、その生理機能の変化を解析することによって、 G a s 6 の生理的な役割を直接明らかにすることを可能にするとともに、同時に、 G a s 6 の関与する種々の病態の解明あるいは治療法の研究のために、遺伝的背景の明確な動物モデルを提供すること。

【解決手段】 G a s 6 蛋白質を発現しないように G a s 6 遺伝子が改変されたマウス。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 Gas 6蛋白質を発現しないようにGas 6遺伝子が改変されたマウス。

【請求項2】 Gas 6遺伝子の領域内に他の遺伝子が挿入されることによりGas 6遺伝子が改変された請求項1記載のマウス。

【請求項3】 他の遺伝子が選択マーカー遺伝子である請求項2記載のマウス。

【請求項4】 Gas 6遺伝子の第1エキソンおよび第2エキソンを含む領域をネオマイシン耐性遺伝子と置換することにより、該ネオマイシン耐性遺伝子がGas 6遺伝子の領域内に挿入されている、請求項1～3いずれか記載のマウス。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、Gas 6遺伝子改変マウスに関する。さらに詳しくは、Gas 6蛋白質が発現されないようにGas 6遺伝子が改変されたマウスに関する。

【0002】

【従来の技術】Gas 6は、細胞の増殖が停止した時に特異的に発現が亢進する遺伝子の産物として発見されたものである(Manfioletti, G. et al., Mol. Cell. Biol., 13, 4976-4985(1993))。Gas 6がどのような生物活性を有するのかは明らかにされていなかったが、本発明者らにより、血管平滑筋細胞の増殖を促進する蛋白質として血管平滑筋細胞の培養液から精製された蛋白質がGas 6そのものであったことから、Gas 6の生物活性の一つは、細胞の増殖促進であることが判明した(Nakano, T. et al., J. Biol. Chem., 270, 5702-5705(1995))。さらに、Gas 6は、血管平滑筋細胞の細胞死を防ぐ活性をも有する(Nakano, T. et al., FEBS Lett., 387, 78-80(1996))。一方、Gas 6は、チロシンキナーゼ型のレセプターであるAx1、Skyなどのリガンドであることが明らかにされ、Gas 6の生物活性はおそらくこれらのレセプターを介しているものと予想されている(Varnum, B.C. et al., Nature, 373, 623-626; Ohashi, K. et al., J. Biol. Chem., 270, 22681-22684(1995))。

【0003】Gas 6は、血管平滑筋以外にも多くの組織で発現していることが明らかにされており、レセプターであるAx1、Skyに関してもSkyが脳に特異的に、Ax1がその他の多くの組織で発現していることが知られている。従って、Gas 6は、血管以外の組織でも重要な生理作用を有することが予想されているが、Gas 6の生物活性については、前記したように未だ限られた情報しかなく、生体の機能維持にどのように関与しているかは解明されていない。また、このような生理機能の解明に必要な、Gas 6遺伝子が改変された哺乳動物は知られていない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、前記従来技術に鑑みてなされたものであり、Gas 6遺伝子が改変されたマウスを作製して、その生理機能の変化を解析することによって、Gas 6の生理的な役割を直接明らかにすることを可能にするとともに、同時に、Gas 6の関与する種々の病態の解明あるいは治療法の研究のために、遺伝的背景の明確な動物モデルを提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】すなわち、本発明の要旨は、(1) Gas 6蛋白質を発現しないようにGas 6遺伝子が改変されたマウス、(2) Gas 6遺伝子の領域内に他の遺伝子が挿入されることによりGas 6遺伝子が改変された前記(1)記載のマウス、(3) 他の遺伝子が選択マーカー遺伝子である前記(2)記載のマウス、(4) Gas 6遺伝子の第1エキソンおよび第2エキソンを含む領域をネオマイシン耐性遺伝子と置換することにより、該ネオマイシン耐性遺伝子がGas 6遺伝子の領域内に挿入されている、前記(1)～(3)いずれか記載のマウス、に関する。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明において、マウスとは、Gas 6蛋白質を発現しないようにGas 6遺伝子が改変されたマウスであればいかなるマウスであっても本発明の範疇に含まれる。

【0007】本発明のGas 6遺伝子は、マウス由来の遺伝子であり、マウスゲノミックDNAが好ましい。ゲノミックDNAは、プロモーター領域、エキソン領域およびイントロン領域等を含む。

【0008】本発明において、「Gas 6遺伝子が改変された」とは、前記Gas 6遺伝子の塩基配列において、1または複数の塩基に、置換、欠失、挿入または付加の変異を導入することにより、Gas 6遺伝子が検出されないことまたはGas 6蛋白質が発現されないことをいう。

【0009】前記Gas 6遺伝子が検出されないことは、例えば、PCR法、後述の実施例4に記載のサザンブロットング法により確認することができる。前記Gas 6蛋白質が発現されないことは、例えば、後述の試験例1に記載のように、ウエスタンブロットング法により確認することができる。

【0010】本発明においては、Gas 6遺伝子の領域内に、他の遺伝子が挿入されることにより、Gas 6遺伝子が改変されたマウスが好ましく、スクリーニングの容易さの点から、選択マーカー遺伝子が挿入されることにより、Gas 6遺伝子が改変されたマウスがさらに好ましい。

【0011】前記選択マーカー遺伝子としては、ネオマイシン耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子、アン

ピシリン耐性遺伝子等のポジティブ選択マーカー遺伝子が挙げられるが、選択マーカー遺伝子を含む相同組換え用構築物が導入されるマウス胚性幹細胞をスクリーニングする観点から、ネオマイシン耐性遺伝子が好ましい。ネオマイシン耐性遺伝子は、pMC1neo (STRATAGENE社製) 等の市販のプラスミドから適宜制限酵素等により切り出して用いることができる。

【0012】本発明においては、前記ポジティブ選択マーカー遺伝子に加えて、ジフテリア毒素Aフラグメント遺伝子、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子等のネガティブ選択マーカー遺伝子を所望の相同組換え部位の3'側に導入してもよい。そうすることによって、所望の相同組換え体のスクリーニングが容易になる。

【0013】さらに、本発明においては、相同組換えにより別の転写産物が生じるのを避けるため、Gas6遺伝子の第1エキソンおよび第2エキソンを含む領域をネオマイシン耐性遺伝子と置換することにより、該ネオマイシン耐性遺伝子がGas6遺伝子の領域内に挿入されているマウスが特に好ましい。

【0014】前記Gas6遺伝子の第1エキソンおよび第2エキソンを含む領域とネオマイシン耐性遺伝子との置換は、例えば、相同組換えにより行なうことができる。

【0015】以下に、相同組換えによる本発明のマウスの作製方法を具体的に説明する。

1) マウスGas6遺伝子の相同組換え用構築物の作製
Gas6遺伝子を人為的に改変させたマウスを得るためには、Gas6遺伝子をクローニングし、Gas6遺伝子の塩基配列に前記したような変異を導入した相同組換え用構築物を用いる相同組換えを行なう。Gas6遺伝子のクローニングは、例えばマウス肝臓からゲノミックDNAを抽出し、常法に従ってDNAライブラリーを作製し、これをすでにクローニングされているマウスGas6 DNA、たとえばcDNA (Manfioletti, G. et al., Mol. Cell. Biol., 13, 4976-4985 (1993)) を用いてスクリーニングすればよい。

【0016】Gas6遺伝子を改変させるためには、前記したように、Gas6遺伝子領域内のいずれかの部位を欠失させてもよく、あるいはいずれかの部位に他の遺伝子を挿入させてもよい。他の遺伝子を挿入させる場合、Gas6遺伝子の改変および相同組換えを検出するために、好ましくは、ネオマイシン耐性遺伝子(G418耐性により選択) およびジフテリア毒素Aフラグメント遺伝子を用いる。これらの遺伝子の挿入は、試験管内で常用のDNA組換え技法により行うことができる。

【0017】より具体的には、マウスゲノミックDNAライブラリーをGas6 cDNA断片をプローブとしてハイブリダイズさせることによって、陽性クローンを得る。かかるクローンからDNAを単離し、制限酵素で消

化して特定のエキソンを含むゲノミックDNAをサブクローニングする。次いで、Gas6遺伝子の構造を改変しかつポジティブ/ネガティブセレクションを行うために、ネオマイシン耐性遺伝子およびジフテリア毒素Aフラグメント遺伝子を挿入した構築物を作製して相同組換え用構築物(以下、相同組換え用DNAともいう)として用いる(図1B)。

【0018】2) 相同組換えによる胚性幹細胞でのGas6遺伝子変異

次に、得られた相同組換え用DNAをマウス胚性幹細胞(ES細胞)に導入し、ES細胞中のGas6遺伝子と相同組換えを行う。ES細胞は株化されたものであり、多分化能を保持し、しかも培養細胞として維持、継代が可能な細胞である。相同組換え用DNAの導入は、たとえば常用のエレクトロポレーションにより行うことができる。この相同組換えにおいては、胚性幹細胞内のGas6遺伝子のDNAと相同組換え用DNAの対応する領域との間で組換えが生じ、相同組換え用DNA中に挿入されていたネオマイシン耐性遺伝子が胚性幹細胞のゲノムGas6遺伝子に挿入される。この結果、胚性幹細胞はGas6遺伝子を欠失し、同時にマーカー遺伝子を得る。なお、ジフテリア毒素Aフラグメント遺伝子まで挿入された組み換え体は、発現したジフテリア毒素Aにより細胞死を起こして排除される。

【0019】より具体的には、相同組換え用構築物を胚性幹細胞を含むリン酸緩衝生理食塩水(PBS)に懸濁し、エレクトロポレーションを行なう。次いで、G418で選択培養を行なう。G418耐性コロニーについては、サザンブロットにより相同組換え体の確認を行なう。

【0020】3) Gas6遺伝子変異胚性幹細胞によるキメラマウスの作製

次に、相同組換えにより得られた胚性幹細胞をマウスの胚盤胞に注入し、さらに偽妊娠マウスの子宮角に移植して産仔を得る。さらに、得られたキメラマウスを適当な系統のマウスと交配することにより産仔を得る。キメラマウスの生殖細胞が相同組換え体(Gas6遺伝子が破壊されている)に由来すればGas6遺伝子が改変されたマウスを得ることができる。

【0021】4) ホモ変異マウスの作製

移植によって得られたキメラマウスを、目的とする系統のマウスと交配させ産仔を得る。キメラマウスの生殖細胞が胚性幹細胞に由来しているか、交配マウスの系統に由来しているかは、得られた産仔の適当な特質によって決定できる。Gas6遺伝子のヘテロ変異マウス同士を交配し、産仔のGas6遺伝子をサザンブロットによって確認し、目的物であるGas6遺伝子ホモ変異マウス、即ちGas6遺伝子が改変されたマウスを得る。

【0022】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、これらは本発明の限定を意図するものでは

ない。

【0023】実施例1

Gas6遺伝子DNAの相同組換え用構築物の作製
129SVJ系マウス肝臓のゲノミックDNAライブラリー (STRATAGENE) から、マウスGas6のGla(γ-カルボキシグルタミン酸)ドメインをコードする領域を含む約170 bpのcDNAの部分配列をプローブとして用い、マウスGas6遺伝子の第1エクソン及び第2エクソンを含むクローンを単離した(図1A)。次いで、Gas6遺伝子の構造を破壊し、ポジティブ、ネガティブセクションを行うために、ネオマイシン耐性遺伝子およびジフテリア毒素Aフラグメント遺伝子を用いて構築物を作製した(図1B)。より具体的には、EcoRI-EcoRI断片(3.0kb、第1エクソンの5'側)とBamHI-BamHI(3.5kb、第2エクソンの3'側)を相同領域として用い、ネオマイシン耐性遺伝子とジフテリア毒素Aフラグメント遺伝子(京都大学、糸原博士より分与)を選択マーカーとして相同組換え用構築物を作製した。相同組換えが起こった場合には、マウスGas6第1エクソン及び第2エクソンを含むEcoRI-BamHI領域(1.6 kb)がネオマイシン耐性遺伝子(1.8kb)に置き換わることになる。

【0024】実施例2

相同組換えによるES細胞のGas6遺伝子の変異

1) ES細胞の調製およびその培養方法

実施例1により調製したマウスGas6遺伝子DNAの相同組換え用構築物を導入する細胞として、マウス胚性幹細胞(ES細胞)129/SVJ系マウス胚盤胞由来のE14株(Hooper, M. L. et al., Nature, 326, 292(1987))を用いた。E14株の培養には、ダルベッコ改変イーグル培地(D-MEM, 12800-066 GIBCO)に15%牛胎児血清(FCS)、0.1 mMの2-メルカプトエタノール、核酸混合液、非必須アミノ酸溶液(Gibco)、L-グルタミン、ペニシリン/ストレプトマイシン、および 10^6 units/mlのLIF (AMRAD)を添加した培養液(ES培地)を用いた。

【0025】また、E14株のフィーダー細胞として用いるマウス胎児線維芽細胞の培養には、D-MEMに10% FCS、L-グルタミンおよびペニシリン/ストレプトマイシンを添加した培地(EF培地)を用いた。マウス胎児線維芽細胞の調製および培養は、以下の通りに行った。胎齢10~14日のC57BL/6J系マウスの胎児を無菌的に採取し、PBSで洗浄後、頭および内臓を除いた組織をハサミを用いて細切した。次いで、0.05% トリアシンおよび0.02% EDTAを含む溶液(TE溶液、Gibco)で処理して細胞浮遊液を得た。細胞浮遊液はナイロンメッシュを通して細胞塊や組織片を除いた後に1500 rpmで5分間遠心分離後、上清を除去し、30 mlのEF培地に懸濁し、175 mlの培養用フラスコで培養を行った。3~4日間隔で継代を行い、継代が3代目の細胞を以下の様にマイトマイシンCで処理し、フィーダー細胞として用いた。

【0026】コンフルエント状態に達したマウス胎児線

維芽細胞を10 μg/mlのマイトマイシンCで2時間処理し、EF培地で3回洗浄した後に、TE溶液で処理して細胞を剥離した。次いで、遠心分離後、細胞をEF培地に再懸濁させ、ゼラチンでコートしたフラスコ、シャーレあるいはマイクロプレート上に、 $2 \sim 4 \times 10^4$ cells/cm²となるように分注した。

【0027】E14株の継代は、37℃で5分間、TE溶液で処理後、ピペッティングによって単一細胞にまで分散させ、フィーダー細胞層上に播種することにより行った。培養液は12時間の間隔で交換した。

【0028】2) 相同組換えによるES細胞のGas6遺伝子の変異

制限酵素Not Iにより線状化した相同組換え用DNA 30 μgをE14株 $2.3 \sim 2.5 \times 10^5$ 個を含むPBSに懸濁し、0.8 V、3 mFの条件でエレクトロポレーション法により遺伝子導入を行った。導入後、125 μg/ml G418 (Genetis, Sigma)を含むES培地で選択培養を行った。G418耐性コロニーについては、遺伝子導入約150時間後から、マイクロピペットを用いて20 μlのTE溶液を含む96穴のマイクロプレート(Corning, 25850)に移し換え、数分間処理し、さらにピペッティングにより細胞を分散させた後、200 μlのES培地を含む96穴マイクロプレートに移し換え、培養を継続した。

【0029】96穴のマイクロプレート上の細胞がコンフルエントに達した段階で、TE処理後、順次、24穴のマイクロプレート(IWAKI, 3820-024)に移し換えて培養し、細胞の増殖を図った。なお、ES細胞の培養は、すべてフィーダー細胞上で行った。

【0030】3) 相同組換え体の確認

相同組換え体の確認は、サザンブロットによって以下の通りに行った。G418耐性細胞からゲノミックDNAを抽出し、2種類の制限酵素とプローブを用いて、3'および5'側の組換えを確認した。3'側の確認は、ゲノミックDNAを制限酵素EcoRVで消化後、BamHI-Hind III断片(0.8 kb)をプローブとして行った。相同組換え体および野生型の確認は、それぞれ8.0 kbおよび約23 kbのバンドの検出により行った。この方法により相同組換え体として検出された細胞は、さらに5'側の組換えについて確認した。5'側の確認はゲノミックDNAを制限酵素Hind IIIで消化後、Hind III-EcoRI断片(0.5 kb)をプローブとして行った。相同組換え体および野生型の確認は、それぞれ5.3 kbおよび3.9 kbのバンドの検出により行った。相同組換え体のコロニー数は、G418耐性コロニー476個のうち9個であった。

【0031】以上、実施例1および2により作製した相同組換え体の作製模式図を図1に示す。図1AはGas6遺伝子を示す。点線内の拡大された領域に第1エクソンおよび第2エクソンを示し、かかる領域内の実線はイントロンを示す。第1エクソン中のATGは開始コドンの位置を示す。プローブとしてサザンブロット解析用の5'

プローブ (Hind III-EcoRI ゲノムDNA断片 (0.5 kb)) および3'プローブ (BamHI-Hind III ゲノムDNA断片 (0.8 kb)) を示す。

【0032】図1 BはマウスGas6遺伝子相同組換え用構築物を示す。ネオマイシン耐性遺伝子 (pgk-neo^r)、およびジフテリア毒素Aフラグメント遺伝子 (DT-A) をボックスで示している。実線は相同領域を示す。

【0033】図1 Cは予想および観察される相同組換え体を示す。

【0034】実施例3

Gas6遺伝子変異ES細胞によるキメラマウスの作製
相同組換えが確認されたGas6遺伝子変異ES細胞E14株 (以下、単にES細胞と称する) をC57BL/6J系マウスの胚盤胞へ注入した後、偽妊娠マウスの子宮角に移植して産仔を得た。

【0035】注入に用いたES細胞は、20時間前に凍結から融解させ培養を開始したものを用い、TE処理により分散させた後、ゼラチンコートした24穴プレートに30分間静置することによりフィーダー細胞をディッシュの底に付着させ、ES細胞のみを回収した。ES細胞は顕微操作に供するまで、氷上に静置した。ES細胞の注入針は毛細管 (MICROCAPS 50 μ l) を細く引き延ばし、先端を破碎し、鋭くカットされ、内径がES細胞よりやや小さいものだけを用いた。胚の保持針は、前記の方法で引き延ばしたガラス管を切断した後に先端を溶融して用いた。

【0036】注入針と保持針を針先を約30度屈曲させ、マイクロマニピュレーター (NARISIGE) にセットした。顕微操作に用いたチャンバーは5 cmのシャーレのふたを用い、10 mM Hepes (pH7.3) 緩衝化ES培地を滴下しドロップを形成し、その上面をミネラルオイルで覆った。

【0037】自然交配3.5 日目に、5% FCSを含むPBSで子宮を灌流することによって子宮より採取したC57BL/6J系マウスの胚盤胞を、37°C、5% CO₂条件下、10 mM Hepes (pH7.3) 緩衝化ES培地中で1 時間培養した。この拡張した胚盤胞とES細胞をガラス針を用いてドロップ中に入れ、倒立顕微鏡下でマイクロマニピュレートを行った。胚盤胞1 個につき、15~20 個の相同組換え体のES細胞を注入した。

【0038】操作胚は、1 時間の培養後、偽妊娠2.5 日目のICR 系受容雌の子宮角に移植した。分娩予定日を2 日過ぎても産仔を娩出しなかった受容雌については、帝王切開を施し、里親に哺育させた。

【0039】娩出される産仔は、胚盤由来のC57BL/6J系細胞とES細胞由来の129SVJ系細胞からなるキメラであり、そのキメリズムの良し悪しは毛色で判断される。C57BL/6J系細胞よりなるマウスは黒色を呈するが、ES細胞由来の129SVJ系細胞の寄与率が高いほど一般にキメラマウスは野生色 (あるいは白色) の割合が上がり、毛色は黒色と野生色とのまだら模様となる。得られた産仔のうち、毛色でキメラマウスと判定できたのは3つのES細胞

クローンからそれぞれ3匹 (雄2、雌1)、8匹 (雄2、雌6)、6匹 (雄3、雌3) であった。

【0040】実施例4

ホモ変異マウスの作製

1) キメラマウスの交配

実施例3で得られたキメラマウスを、C57BL/6J系マウスと交配させた。娩出される産仔の毛色は、キメラマウスの生殖細胞が相同組換え体由来であれば、野生色を呈し、C57BL/6J系マウスの胚盤胞由来であれば黒色を呈する。17例のキメラマウスのうち、8 例について野生色の産仔が得られ、ES細胞の生殖系列への伝達が確認された。

【0041】具体的には、8 例のキメラマウスとC57BL/6J系との交配で、20回の分娩で合計112 匹の産仔が得られ、このうち90匹が野生色の毛色を示していた。これらの野生色の毛色のマウスについて遺伝子型の解析を行った結果、46例でGas6遺伝子のヘテロ変異を確認した。マウスの遺伝子型については、2~3 週令のマウスより採取した尾先端からDNAを調製し、3' プローブ (図1) を用いてサザンブロットを行って決定した。

【0042】2) ホモ変異マウスの作製

雄のGas6遺伝子のヘテロ変異マウスを、ES細胞由来の染色体を置き換えるために、雌のC57BL/6J系マウスと1 度以上戻し交配を行った。戻し交配によって得られた産仔は、サザンブロットによりGas6遺伝子の変異を確認した。こうして得られたGas6遺伝子のヘテロ変異マウス同士を交配させ、サザンブロットにより産仔のGas6遺伝子の変異を確認し、Gas6遺伝子のホモ変異マウスを得た。図2に示すように、野生型マウス (+/+) では、23 kb のバンドが、またホモ変異マウス (-/-) ではpgk-neoを含む8.0 kbのバンドが検出され、ヘテロ変異マウス (+/-) では両方のバンドが検出された。

【0043】試験例1

Gas6蛋白質の発現分析

野生型マウス、ヘテロ変異マウスおよびホモ変異マウスの各組織を、界面活性剤SDS (1%) を含む緩衝液中でホモジナイズし、不溶性画分を遠心分離で除いた。可溶化された蛋白質を、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にて分離後、PVDF膜 (ATTO) に電氣的に転写し、ウサギ抗Gas6抗体およびビオチン化抗ウサギIgGを用いてウェスタンブロッティングを行ない、Gas6を検出した。肺における結果を図3に示す。野生型マウス (+/+) およびヘテロ変異マウス (+/-) の各組織で認められる70 kDのGas6蛋白質は、Gas6遺伝子ホモ変異マウス (-/-) では検出されなかった。

【0044】

【発明の効果】本発明により、Gas6遺伝子改変マウスが提供される。かかるマウスは、Gas6の関与する循環器系、呼吸器系、中枢系ならびに免疫系疾患の病態

生理、原因の解明および治療法の開発等の研究のための実験動物として有用である。

【図面の簡単な説明】

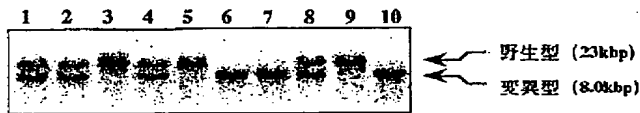
【図1】図1は、マウスGas6遺伝子、相同組換え用構築物およびGas6遺伝子の相同組換え体の模式図を示す。

【図2】図2は、F2世代のマウスより調製したDNAをEcoRVで消化し、3'-プロンプを用いてサザンブロット分析を行なった電気泳動の写真である。レーン3、5および9は、野生型を示し、レーン1、2、4および8は、ヘテロ変異を示し、レーン6、7および10は、ホモ変

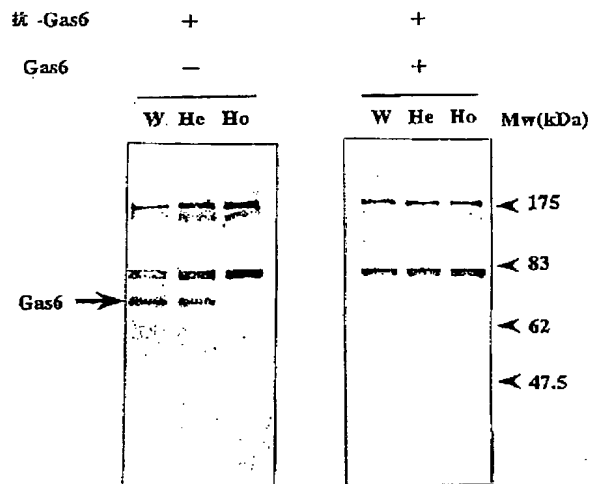
異を示す。右端には、野生型(23 kbp)および変異型(8.0 kbp)の位置を示している。

【図3】図3は、野生型、Gas6ヘテロ変異およびGas6ホモ変異マウスにおけるGas6蛋白質の発現を示すウエスタンブロットの電気泳動の写真である。左のパネルは、抗Gas6抗体により各マウスの肺におけるGas6蛋白質の発現を検出した結果を示し、右のパネルは、抗Gas6抗体をGas6蛋白質で吸収した際の結果を示す。W:野生型マウス(+/-)、He:ヘテロ変異マウス(+/-)、Ho:ホモ変異マウス(-/-)。

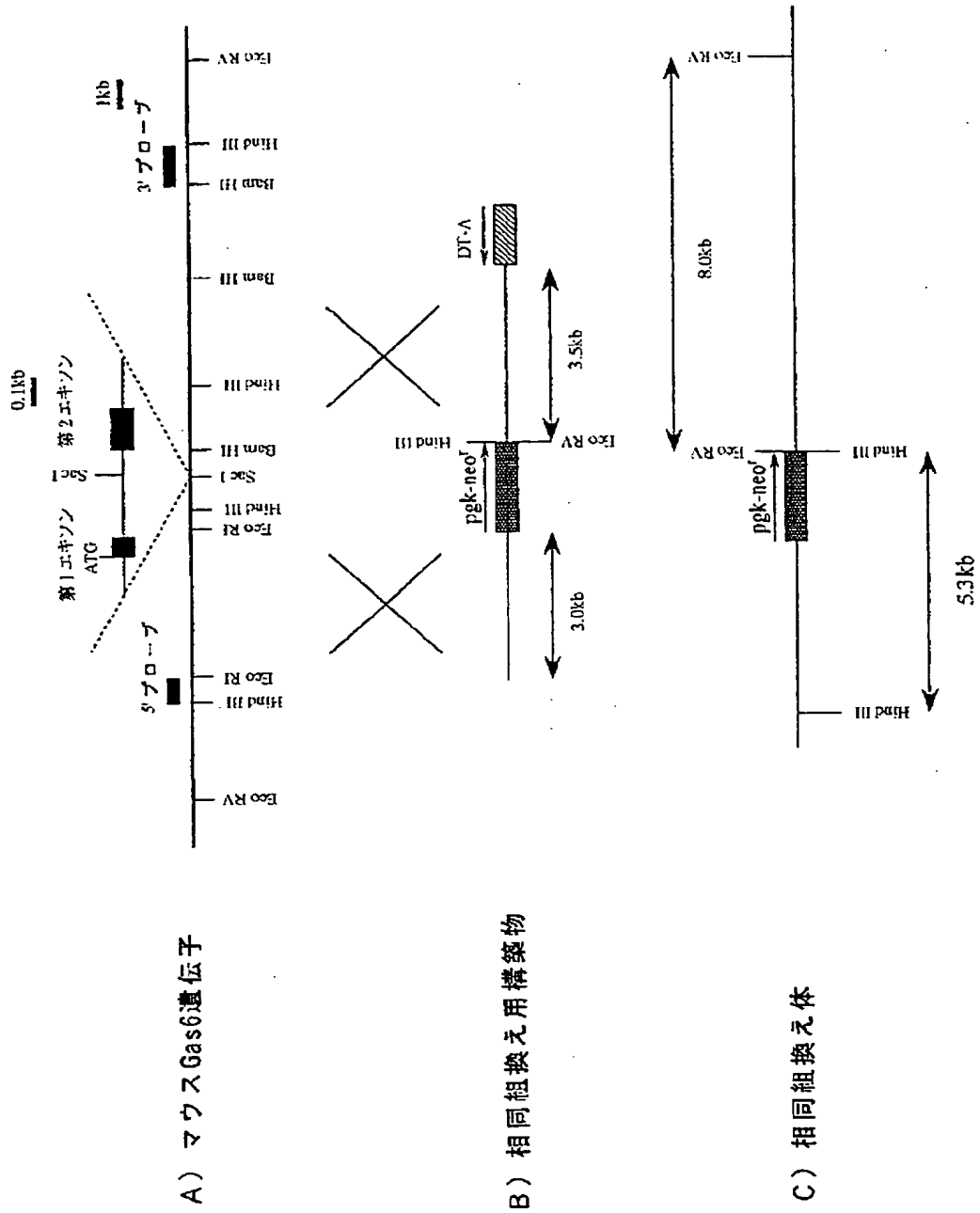
【図2】



【図3】



【図1】





10-10-10